

Protein kinase C inhibitor

Publication number: DE69600784T
Publication date: 1998-04-08
Inventor: ENGEL GARY LOWELL (US); FARID NAGY ALPHONSE (US); FAUL MARGARET MARY (US); JIROUSEK MICHAEL ROBERT (US); RICHARDSON LORI ANN (US); WINNEROSKI LEONARD LARRY (US)
Applicant: LILLY CO ELI (US)
Classification:
- international: A61K31/395; A61K31/407; A61P3/08; A61P3/10; A61P43/00; C07D498/22; A61K31/395; A61K31/407; A61P3/00; A81P43/00; C07D498/00; (IPC1-7): C07D471/04; A61K31/40; A61K31/44; C07D498/22
- european: C07D498/22
Application number: DE19956000784T 19961118
Priority number(s): US19950006970P 19951120

Also published as:

EP0776895 (A1)
WO9718809 (A1)
ZA9609646 (A)
BR9611724 (A)
EP0776895 (B1)

[more >>](#)

Abstract not available for DE69600784T
Abstract of corresponding document: EP0776895

This invention provides novel bis-indolylmaleimide macrocycle derivatives of the formula: <CHEM> and solvates thereof. The invention further provides the preparation, pharmaceutical formulations and the methods of use for inhibiting Protein Kinase C in mammals.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

[43]



(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

(12) Übersetzung der
europäischen Patentschrift
(87) EP 0 776 895 B 1
(10) DE 696 00 784 T 2

(51) Int. Cl.⁶:
C 07 D 471/04
A 61 K 31/44
C 07 D 498/22
A 61 K 31/40

- (21) Deutsches Aktenzeichen: 696 00 784.3
 (86) Europäisches Aktenzeichen: 96 308 318.3
 (86) Europäischer Anmeldetag: 18. 11. 96
 (87) Erstveröffentlichung durch das EPA: 4. 6. 97
 (87) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: 14. 10. 98
 (47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 8. 4. 99

- (30) Unionspriorität:
6970 20. 11. 95 US
 (73) Patentinhaber:
Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind., US
 (74) Vertreter:
Spott Weinmüller & Partner, 80336 München
 (84) Benannte Vertragstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU,
NL, PT, SE

- (72) Erfinder:
Engel, Gary Lowell, Greenwood, Indiana 46143, US;
Farid, Nagy Alphonse, Lebanon, Indiana 46052, US;
Faul, Margaret Mary, Zionsville, Indiana 46077, US;
Jirousek, Michael Robert, Indianapolis, Indiana
46236, US; Richardson, Lori Ann, Indianapolis,
Indiana 46237, US; Winneroski, Leonard Larry, Jr.,
Greenwood, Indiana 46142, US

(54) Proteinkinase-C-Inhibitor

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingeleitet, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 696 00 784 T 2

06.11.96

1

0 776 895

Die Proteinkinase C (PKC) besteht aus einer Familie eng verwandter Enzyme, die als Serin/Threoninkinasen fungieren. Die Proteinkinase C spielt eine wichtige Rolle bei der Zell-Zell-Signalübertragung, der Genexpression und der Kontrolle der Zelldifferenzierung und dem Wachstum. Derzeit gibt es mindestens zehn bekannte Isoenzyme der PKC, die sich in ihrer Gewebsverteilung, enzymatischen Spezifität und Regulation unterscheiden. Y. Nishizuka, Annu. Rev. Biochem. 58: 31-44 (1989), Y. Nishizuka, Science 258: 607-614 (1992).

Die Proteinkinase C Isoenzyme sind einzelne Polypeptidketten mit einer Länge von 592 bis 737 Aminosäuren. Die Isoenzyme enthalten eine regulatorische Domäne und eine katalytische Domäne, die durch ein Linkerpeptid verbunden sind. Die regulatorischen und katalytischen Domänen können weiter in konstante und variable Regionen unterteilt werden. Die katalytische Domäne der Proteinkinase C ist sehr ähnlich zu der, die in anderen Proteinkinasen vorkommt, während die regulatorische Domäne für die PKC Isoenzyme einzigartig ist. Die PKC Isoenzyme zeigen zwischen 40-80 % Homologie auf der Ebene der Aminosäuren innerhalb der Gruppe. Jedoch ist die Homologie eines einzelnen Isoenzymes zwischen unterschiedlichen Arten im allgemeinen größer als 97 %.

Die Proteinkinase C ist ein membranassoziiertes Enzym, das durch mehrere Faktoren allosterisch reguliert wird, einschließlich der Membranphospholipide, Calcium und bestimmten Membranlipiden, wie Diacylglycerine, die bei der Reaktion auf die Aktivitäten der Phospholipasen freigesetzt werden. R.M. Bell und D.J. Burns, J. Biol. Chem. 266: 4661-4664 (1991), Y. Nishizuka Science 258: 607-614 (1992). Die Proteinkinase C Isoenzyme alpha, beta-1, beta-2 und gamma benötigen Membranphospholipid, Calcium und Diacylglycerin / Phorbolester für die volle Aktivierung. Die delta-, epsilon-, eta- und theta-Formen der PKC sind Calcium-unabhängig in ihrem Aktivierungsmodus. Die zeta- und lambda-Formen der PKC sind sowohl von Calcium als auch von Diacylglycerin unabhängig und dürfen nur Membranphospholipid für ihre Aktivierung benötigen.

Es können nur eine oder zwei Proteinkinase C Isoenzyme in einem gegebenen Krankheitszustand beteiligt sein. Beispielsweise führen die erhöhten Blutglucosespiegel, die man bei Diabetes findet, zu einer Isoenzym-spezifischen Erhöhung des beta-2-Isoenzyms in vaskulären Geweben. Inogushi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 11059-11065 (1992). Eine mit Diabetes zusammenhängende Erhöhung des beta-Isozyms in humanen Blutzellen wurde mit ihrer veränderten Reaktion auf Agonisten in Verbindung gebracht. E.J. Bastyr III und J. Lu, Diabetes 42: (Suppl. 1) 97A (1993). Vom humanen Vitamin D Rezeptor wurde gezeigt, daß er selektiv von der Proteinkinase C beta phosphoryliert wird. Diese Phosphorylierung wurde mit Veränderungen in der Funktionsweise des Rezeptors in Verbindung gebracht. Hsieh et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 9315-9319 (1991). Hsieh et al., J. Biol. Chem. 268: 15118-15126 (1993). Zusätzlich zeigte eine kürzliche Arbeit, daß das beta-2 Isoenzym für die Erythroleukämiezellproliferation verantwortlich ist, während das alpha-Isoenzym bei der Differenzierung der Megakaryozyten in denselben Zellen verantwortlich ist. Muray et al., J. Biol. Chem. 268: 15847-15853 (1993).

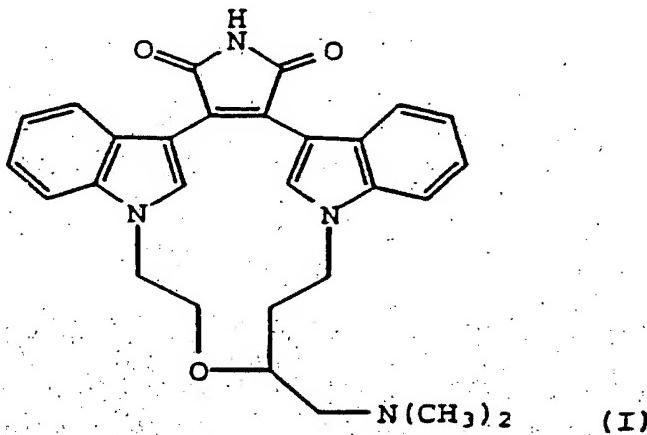
Die ubiquitäre Art der Proteinkinase C Isoenzyme und ihre wichtigen Rollen in der Physiologie stellen Anreize dar, hochselektive PKC Inhibitoren herzustellen. Wenn fest steht, daß ein Zusammenhang zwischen bestimmten Isoenzymen mit Krankheitszuständen besteht, ist es naheliegend anzunehmen, daß hemmende Verbindungen, die für eine oder zwei Proteinkinase C Isoenzyme relativ zu den anderen PKC Isoenzymen und anderen Proteinkinasen selektiv sind, hochwertige therapeutische Mittel sind. Solche Verbindungen zeigen eine größere Wirksamkeit und eine geringere Toxizität aufgrund ihrer Spezifität.

06.11.1986

2

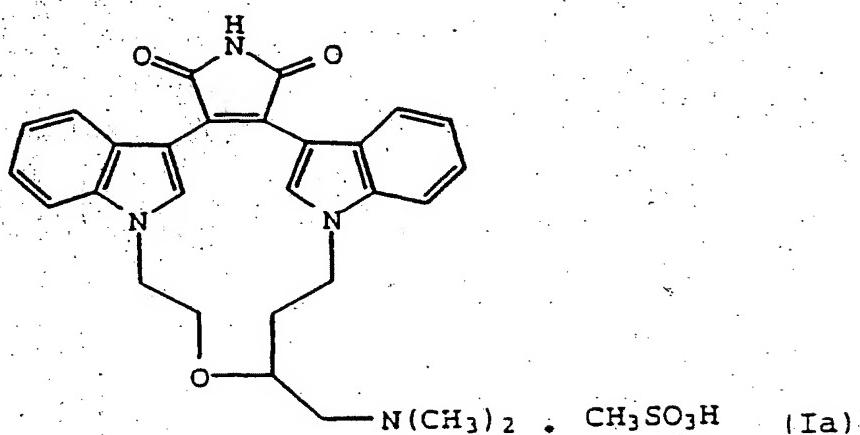
0 776 895

Eine Klasse von N,N'-verbrückten Bisindolylmaleimiden wurde in Heath et al., EP-A 0 657 458 (USSN 08/413 735) beschrieben. Eine bevorzugte Verbindung in diesen N,N'-verbrückten Serien umfaßt eine Verbindung der Formel I:



Die vorliegende Erfindung liefert eine neue, wirksame Salzform der Verbindung der Formel I. Am unerwartetsten ist, daß die beanspruchte Salzform eine verbesserte Löslichkeit und eine dramatisch verbesserte Bioverfügbarkeit für den Patienten aufweist. Darüberhinaus ist das Salz leicht herstellbar und wird als kristalline Form gereinigt. Daher ist das beanspruchte Salz pharmazeutisch eleganter und ein stark verbessertes therapeutisches Mittel. Das beanspruchte Salz ist zur Behandlung von Zuständen brauchbar, die zusammenhängen mit Diabetes mellitus und dessen Komplikationen, Ischämie, Entzündung, Störungen des zentralen Nervensystems, kardiovaskulärer Erkrankung, dermatologischer Erkrankung und Krebs.

Die Erfindung liefert ein Mesylatsalz einer Verbindung der Formel I. Daher liefert die Erfindung eine Verbindung der Formel Ia



und Solvate hiervon.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zur Hemmung der Proteinkinase C, das gekennzeichnet ist durch die Verabreichung einer pharmazeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der Formel Ia an einen Säuger, der einer solchen Behandlung bedarf. Die Erfindung liefert ferner Verfahren zur Behandlung von Zuständen, bei denen die Proteinkinase C eine Rolle in der Pathologie gezeigt hat, wie Ischämie, Entzündung, Störungen des zentralen Nervensystems, kardiovaskulärer Erkrankung, dermatologischer Erkrankung und Krebs.

06.11.98

3

0 776 895

die gekennzeichnet sind durch die Verabreichung einer pharmazeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der Formel Ia an einen Säuger, der einer solchen Behandlung bedarf.

Die Erfindung ist besonders brauchbar als Pharmazeutikum und besonders bei der Behandlung von mikrovaskulären diabetischen Komplikationen, insbesondere diabetischer Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie. Daher liefert die Erfindung ferner ein Verfahren zur Behandlung von Diabetes mellitus und dessen Komplikationen, das gekennzeichnet ist durch die Verabreichung einer pharmazeutisch wirksamen Menge einer Verbindung der Formel Ia an einen Säuger, der einer solchen Behandlung bedarf.

Ein letzter Aspekt der Erfindung sind pharmazeutische Formulierungen, die eine Verbindung der Formel Ia zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Hilfsstoffen, Trägern oder Verdünnungsmitteln hierfür enthalten.

Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung, wie sie hierin beschrieben und beansprucht ist, werden die folgenden Ausdrücke und Abkürzungen folgendermaßen definiert:

Der Ausdruck "pharmazeutisch wirksame Menge", wie er hierin verwendet wird, steht für eine Menge einer Verbindung, die zur Hemmeung der PKC Aktivität in Säugern fähig ist. Die genaue Dosis der erfindungsgemäß verabreichten Verbindung wird natürlich von den einzelnen Umständen bestimmt, die den Fall umgeben, einschließlich der verabreichten Verbindung, dem Verabreichungsweg, dem im einzelnen zu behandelnden Zustand und ähnlicher Betrachtungen. Die Verbindung kann auf eine Vielzahl an Wegen verabreicht werden, einschließlich oral, rektal, transdermal, subkutan, topisch, intravenös, intramuskulär oder intranasal. Vorgezogene Weise wird die Verbindung oral verabreicht. Für alle Indikationen enthält eine typische Tagesdosis etwa 0,01 mg/kg bis etwa 20 mg/kg des erfindungsgemäßen Wirkstoffs. Bevorzugte Tagesdosen betragen etwa 0,01 bis etwa 10 mg/kg, bevorzugter unter 1 mg/kg und am bevorzugtesten etwa 0,05 bis etwa 0,5 mg/kg.

Der Ausdruck "behandeln", wie er hierin verwendet wird, beschreibt die Anstrengungen und die Sorge um einen Patienten zum Zweck der Bekämpfung der Erkrankung, der Zustands oder der Störung und umfaßt die Verabreichung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur Verhinderung des Auftretens der Symptome oder Komplikationen, Linderung der Symptome oder Komplikationen oder Eliminierung der Erkrankung, des Zustands oder der Störung.

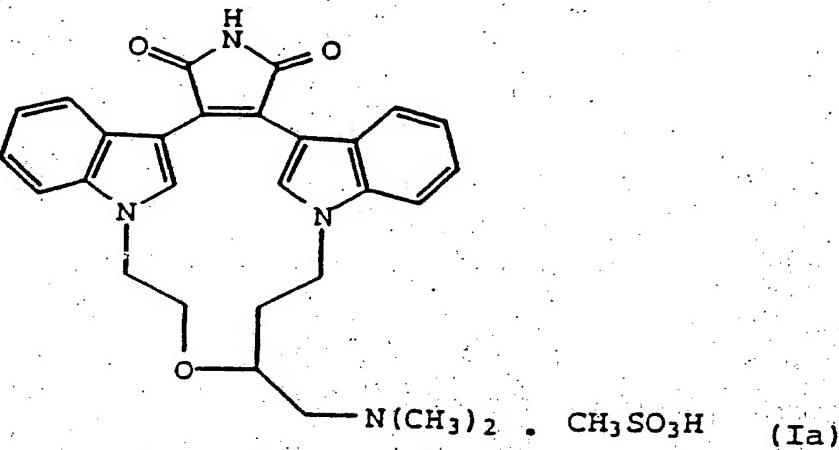
Der Ausdruck "gesamte verwandte Substanzen", wie er hierin verwendet wird, bezieht sich auf die relativen Mengen an Verunreinigungen im Endprodukt. Verunreinigungen sind unter anderem Zwischenprodukte aus vorangehenden Reaktionen oder unerwünschte Reaktionsnebenprodukte im Endprodukt. Die gesamten verwandten Substanzen sind ein Maß für die Reinheit.

06.11.96

4

0 776 895

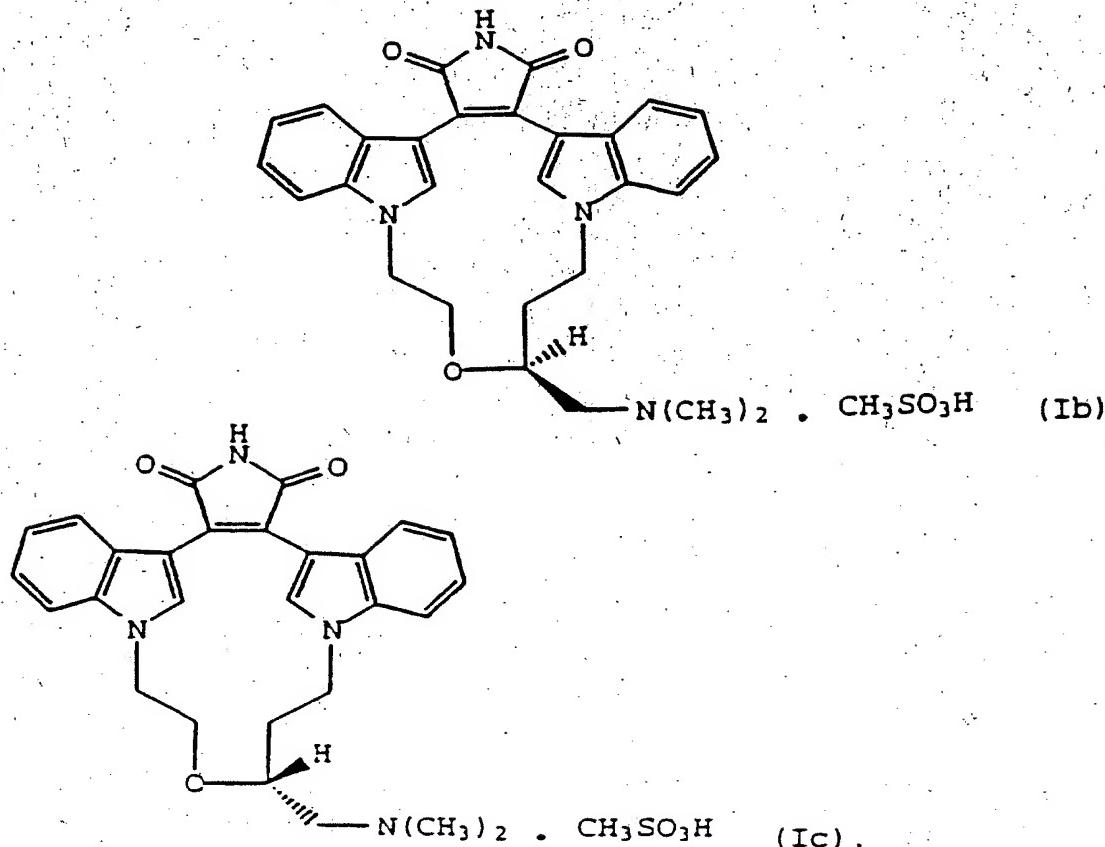
Wie oben erwähnt, liefert die Erfindung Verbindungen der Formel Ia, die selektiv Proteinkinase C hemmen



und Solvate hiervon.

Die Verbindung der Formel Ia kann in Form von Solvaten vorkommen, wie mit Wasser (Hydrat), Methanol, Ethanol, Dimethylformamid, Ethylacetat und dergleichen. Gemische solcher Hydrate und Solvate können auch hergestellt werden. Die Quelle eines solchen Hydrats und/oder Solvats kann aus dem Lösemittel der Kristallisation, inhärent im Lösemittel der Herstellung oder Kristallisation oder verunreinigend im Lösemittel enthalten sein. Solche Hydrate und Solvate liegen innerhalb des Schutzmanganges der Erfindung. Vorzugsweise werden die Verbindungen der Formel Ia als Monohydrat oder Trihydrat hergestellt.

Es ist bekannt, daß verschiedene stereoisomere Formen der Verbindungen der Formel Ia vorkommen können. Die bevorzugten Verbindungen der vorliegenden Erfindung sind die der Formel Ib und Ic.



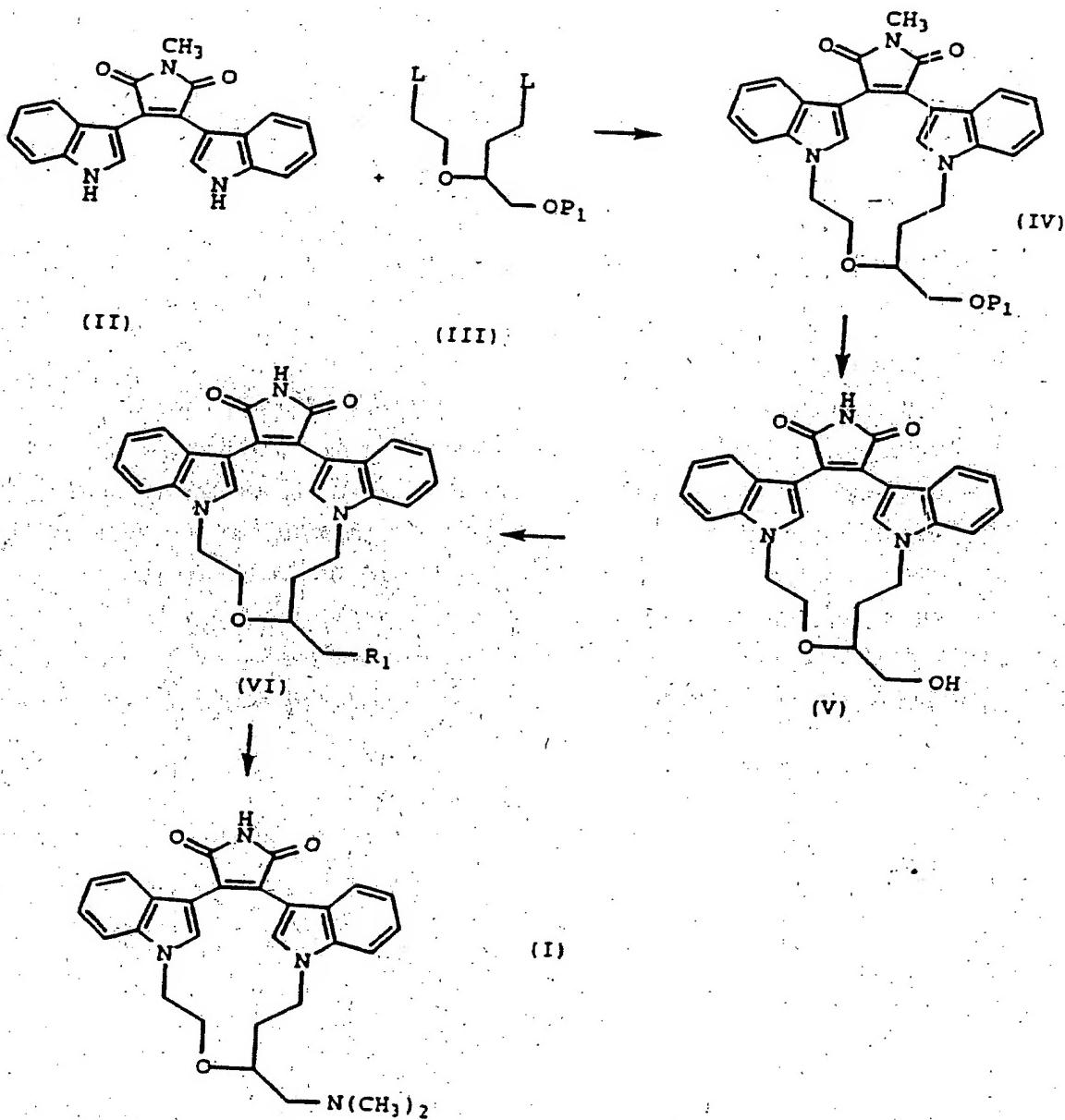
06.11.98

5

0 776 895

Jedoch sind Razemate, einzelne Enantiomere und Gemische hiervon Teil der vorliegenden Erfindung.

Die Herstellung der freien Base der Formel I ist in Heath et al., EP-A 0 657 458 beschrieben, die hiermit eingeführt ist. Vorzugsweise wird die Verbindung folgendermaßen hergestellt:



R_1 steht für OMesyl oder Br. P_1 steht für eine Hydroxyschutzgruppe, vorzugsweise tert-Butyldiphenylsilyloxy (TBDPS), tert-Butyldimethylsilyloxy (TBDMS), Triphenylmethyl (Trityl), Mono- oder Dimethoxytrityl oder einen Alkyl- oder Arylester. L steht für eine gute Abgangsgruppe, wie Chlor, Brom, Iod, Mesyl, Tosyl und dergleichen. Vorzugsweise steht L für O-Mesyl oder Br.

Die Umsetzung unter Bildung der Verbindung IV wird durch eines der bekannten Verfahren zur Herstellung von N-substituierten Indolen erreicht. Die Umsetzung umfaßt gewöhnlich etwa äquimolare Mengen der Reagenzien II und III, obwohl andere Verhältnisse, insbesondere die, worin das Alkylierungsmittel im Überschuß

vorliegt, ebenfalls funktionieren. Die Umsetzung wird am besten in einem polaren aprotischen Lösemittel mittels eines Alkalimetallsalzes oder durch andere Alkylierungsbedingungen ausgeführt, wie sie in der Technik bekannt sind. Die Reaktionsbedingungen umfassen folgendes: Kaliumhexamethyldisilazid in Dimethylformamid oder Tetrahydrofuran, Natriumhydrid in Dimethylformamid. Vorzugsweise wird die Reaktion unter einer langsamen reversen Zugabe mit Cäsiumcarbonat entweder in Acetonitril oder Dimethylformamid (DMF) ausgeführt. Die Temperatur der Reaktion beträgt vorzugsweise Raumtemperatur bis etwa Rückflußtemperatur des Reaktionsgemisches.

Die Verbindung IV wird durch Verfahren in die Verbindung V umgewandelt, die in der Technik zur Schutzgruppenabspaltung am Hydroxy bekannt sind. Die Verbindung V wird durch Umsetzung der Verbindung V mit Methansulfonsäureanhydrid und Pyridin in THF oder Methylenechlorid unter Stickstoff oder durch Umsetzung des Alkohols mit Brom in Gegenwart von Triphenylphosphin oder Triphenylphosphit und Pyridin in Methylenechlorid, THF oder Acetonitril oder einem anderen geeigneten Lösemittel bequem in die Verbindung VI umgewandelt. Die Verbindung VI wird in das Dimethylamin, die Verbindung I, durch die Umsetzung der Verbindung VI mit Dimethylamin in einem polaren Lösemittel, wie DMF, THF / Wasser, Dimethylacetamid oder anderen in der Technik bekannten Bedingungen umgewandelt.

Das beanspruchte Mesylatsalt wird durch Umsetzung einer Verbindung der Formel I mit Methansulfinsäure in einem nicht-reaktiven organischen Lösemittel, vorzugsweise einem organischen Lösemittel / Wassergemisch, und am bevorzugtesten Wasser - Aceton hergestellt. Andere Lösemittel, wie Methanol, Aceton, Ethylacetat und Gemische hiervon funktionieren auch. Das Verhältnis des Lösemittels zum Wasser ist nicht entscheidend und wird im allgemeinen durch die Löslichkeit der Reagenzien bestimmt. Bevorzugte Wasserverhältnisse liegen im allgemeinen bei 0,1 : 1 bis 100:1 Volumen Lösemittel zu Wasser. Vorzugsweise beträgt das Verhältnis 1:1 bis 20:1 und am bevorzugtesten 5:1 bis 10:1. Das optimale Verhältnis hängt von dem ausgewählten Lösemittel ab und ist vorzugsweise Aceton mit einem Verhältnis von 9:1 Lösemittel zu Wasser. Die Reaktion umfaßt gewöhnlich etwa äquimolare Mengen der zwei Reagenzien; obwohl andere Verhältnisse, insbesondere die, worin die Methansulfinsäure im Überschuß vorliegt, ebenfalls funktionieren. Die Geschwindigkeit der Zugabe von Methansulfinsäure ist für die Reaktion nicht entscheidend und sie kann schnell (< 5 Minuten) oder langsam über 6 Stunden oder mehr zugegeben werden. Die Reaktion wird bei Temperaturen ausgeführt, die von 0°C bis Rückfluß reichen. Die Reaktion wird gerührt, bis die Salzbildung vollständig ist, wie dies durch Röntgenbeugung am Pulver gezeigt wird, und kann 5 Minuten bis 12 Stunden dauern. Die erfindungsgemäßen Salze werden vorzugsweise und leicht als kristalline Form hergestellt. Die Trihydratform des Salzes kann durch Trocknen oder durch Aussetzen gegenüber einer relativen Luftfeuchtigkeit von 20-60 % leicht in das Monohydrat überführt werden. Das Salz ist im wesentlichen kristallin, was ein definierter Schmelzpunkt, die Doppelbrechung und ein Röntgenbeugungsmuster zeigen. Im allgemeinen haben die Kristalle weniger als 10 % amorphen Feststoff und vorzugsweise weniger als 5 % und vor allem weniger als 1 % amorphen Feststoff.

Das Mesylatsalt wird durch Filtration oder andere bekannte Trenntechniken direkt aus dem Reaktionsgemisch in Ausbeuten von 50 % bis 100 % isoliert. Ein Umkristallisation und andere in der Technik bekannte Verfahren können erforderlichenfalls zur weiteren Reinigung des Salzes verwendet werden.

Die folgenden Beispiele und Präparationen werden nur zur weiteren Erläuterung der Erfindung bereitgestellt. Der Schutzmfang der Erfindung besteht nicht nur aus den folgenden Beispielen. In den folgenden Beispielen und Präparationen werden Schmelzpunkt, Kernmagnetresonanzspektrum, Massenspektrum, Hochdruckflüs-

06.11.96

7

0 776 895

sigchromatographie über Silicagel, N,N-Dimethylformamid, Palladium auf Kohle, Tetrahydrofuran und Ethylacetat jeweils abgekürzt mit Smp., NMR, MS, HPLC, DMF, Pd/C, THF und EtOAc. Die Ausdrücke "NMR" und "MS" zeigen an, daß das Spektrum mit der gewünschten Struktur übereinstimmt.

Präparation 1

3-(2-[(Methylsulfonyl)oxy]ethoxy)-4-(triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat

Tritylchlorid (175,2 g, 0,616 mol) wird in 500 ml CH₂Cl₂ unter N₂ gelöst. Triethylamin (71,9 g, 100 ml; 0,710 mol) wird zugegeben und dann wird R,S-Glycidol (50,0 g, 0,648 mol) zugegeben und die Reaktionslösung wird auf sanften Rückfluß (42°C) für 4 Stunden erhitzt. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur abgekühlt und zweimal mit 250 ml einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung und dann 250 ml Kochsalzlösung extrahiert. Die wäßrigen Phasen werden mit 100 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert und die organische Phase wird getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung von Tritylglycidol als Öl eingedampft, das aus Ethanol unter Bildung von 104,4 g (54 %) Tritylglycidol als Feststoff umkristallisiert wird.

Eine 1 M THF Lösung aus Vinylmagnesiumbromid (50 ml, 50 mmol, 2,0 Äqu.) wird unter N₂ aus -20°C abgekühlt und es wird eine katalytische Menge Kupferiodid (0,24 g, 1,26 mmol, 0,05 Äqu.) zugegeben. Das entstehende Gemisch wird bei -20°C für 5 Minuten gerührt und dann wird eine Lösung aus Tritylglycidol (7,91 g, 25,0 mmol) in 40 ml trockenem THF bei -20°C tropfenweise über 15 Minuten zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 3 Stunden bei -20°C gerührt und kann sich dann auf Raumtemperatur erwärmen und für 15 Minuten röhren. Die Reaktion wird durch Kühlen des Reaktionsgemisches auf -30°C gestoppt und 125 ml einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung werden langsam zugegeben. Das entstehende Gemisch wird mit 200 ml Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird dann mit einer wäßrigen Lösung aus 0,93 g (2,50 mmol, 0,1 Äqu.) Ethyldiamintetraessigsäure, als Dinatriumsalzdihydrat (EDTA) in 125 ml entionisiertem Wasser zur Entfernung aller Metalle extrahiert. Die wäßrigen Phasen werden mit 50 ml Ethylacetat rückextrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden mit 100 ml Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung eines Öls eingedampft, das mittels 1,2 1 3/1 Hexan / Ethylacetat durch Silica (76 g) filtriert wird. Das Filtrat wird im Vakuum unter Bildung von 0,07 g 1-O-(Triphenylmethyl)-2-hydroxypentanol als hellgelb gefärbtes Öl eingedampft (100 %).

Eine 60 % Suspension aus Natriumhydrid in Mineralöl (6,13 g, 0,153 mol, 1,5 Äqu.) wird durch Zugabe bei Raumtemperatur zu 175 ml trockenem THF suspendiert. Das entstehende Gemisch wird bei Raumtemperatur für 1,5 Stunden gerührt und dann werden 17,7 ml (0,204 mol, 2,0 Äqu.) frisch destilliertes Allylbromid über eine Spritze zugegeben. Die Reaktion wird für 1 h auf 45°C erhitzt. Die Reaktion kann durch DC oder HPLC verfolgt werden. Das Reaktionsgemisch wird auf 0°C abgekühlt und 400 ml einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung werden langsam zugegeben, um den Basenüberschuß abzufangen. Das entstehende Gemisch wird mit 800 ml Ethylacetat extrahiert und die organische Phase wird mit 500 ml Wasser gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden mit 100 ml Ethylacetat rückextrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden mit 200 ml Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung von 41,5 g (> 100 %) 1,1',1"-[[[2-(2-Propenyloxy)-4-pentenyl]oxy]methylidin]tris[benzol] als gelbes Öl eingedampft.

1,1',1"-[[[2-(2-Propenyloxy)-4-pentenyl]oxy]methylidin]tris[benzol] (39,3 g, 0,102 mol) wird in einer Lösung aus 390 ml wasserfreiem Methylalkohol und 60 ml CH₂Cl₂ gelöst und unter Durchblasen von N₂ durch die viskose Lösung auf -50° bis -40°C gekühlt. Dann wird Ozon durch das Reaktionsgemisch bei -50°C bis -40°C für

80 Minuten geblasen bis die Reaktion eine blaßblaue Farbe annimmt. Das entstehende Reaktionsgemisch kann sich unter N₂ auf 0°C erwärmen und dann wird eine Lösung aus Natriumborhydrid (23,15 g, 0,612 mol, 6 Äqu.) in 85 ml Ethanol / 85 ml Wasser langsam zugegeben, um die Reaktion zu stoppen, wobei die Reaktionstemperatur unter 10°C gehalten wird. Die Reaktion wird für 30 Minuten in einem Eisbad gerührt und kann sich dann auf Raumtemperatur erwärmen und über Nacht rühren. Die Temperatur steigt beim Erwärmen auf 31°C. Das Reaktionsgemisch wird mit 400 ml einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung verdünnt und mit 800 ml Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit 400 ml Wasser gewaschen und die wäßrige Phase wird mit 150 ml Ethylacetat rückextrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit 200 ml Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung eines trüben Öls eingedampft. Dieses Öl wird aus 2/1 Hexan / Ethylacetat in 3 Kristallisaten unter Bildung von 28,9 g 3-(2-Hydroxyethoxy)-4-(triphenylmethoxy)-1-butanol (72 %) umkristallisiert.

3-(2-Hydroxyethoxy)-4-(triphenylmethoxy)-1-butanol (14,0 g, 35,7 mmol) wird in 140 ml CH₂Cl₂ gelöst, unter N₂ auf 0°C gekühlt und Triethylamin (10,8 g, 14,9 ml, 0,107 mol, 3,0 Äqu.) wird zugegeben. Dann wird Methansulfonylchlorid (11,0 g, 7,46 ml, 96,4 mmol, 2,7 Äqu.) tropfenweise bei < 5°C zugegeben. Das entstehende Reaktionsgemisch wird dann mit zusätzlichem CH₂Cl₂ (300 ml) verdünnt und mit 200 ml Wasser und 200 ml einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden mit 50 ml CH₂Cl₂ rückextrahiert und die vereinigte organische Phase wird mit 100 ml Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung von 18,4 g (94 %) 3-(2-[Methylsulfonyl]oxyethoxy)-4-triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat als weißer Feststoff eingedampft.

Präparation 2

(S)-Tritylglycidol

Tritylchlorid (2866 g, 10,3 mol) wird in 7 l CH₂Cl₂ unter N₂ gelöst. Triethylamin (1189 g, 1638 ml, 11,8 mol) wird zugegeben und dann wird (R)-(+)-Glycidol (795,0 g, 10,6 mol) mittels 1 l CH₂Cl₂ als Nachspülmittel zugegeben. Die Reaktionslösung wird für 3-4 Stunden auf einen sanften Rückfluß (42°C) erhitzt. Die Reaktion wird auf Raumtemperatur abgekühlt und dann werden 3 l Kochsalzlösung zugegeben. Die organische Phase wird getrocknet (600 g Na₂SO₄) und im Vakuum unter Bildung der Titelverbindung als Öl eingedampft, das aus Ethanol unter Bildung von 2354 g (70 %) der Titelverbindung als Feststoff umkristallisiert wird.

Präparation 3

(S)-3-[2-[Methylsulfonyl]oxylethoxy]-4-(triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat

Eine 1 M THF Lösung aus Vinylmagnesiumbromid (5,76 l, 5,76 mol, 1,96 Äqu.) wird unter N₂ auf -20°C abgekühlt und es wird eine katalytische Menge Kupferiodid (28,2 g, 0,148 mol, 0,05 Äqu) zugegeben. Das entstehende Gemisch wird bei -20°C für 5 Minuten gerührt und dann wird eine Lösung aus (S)-Tritylglycidol (929,0 g, 2,94 mol) in 3,2 l trockenem THF bei -20°C tropfenweise über 1,5 Stunden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 1 Stunde bei -20°C gerührt. Die Reaktion wird durch Kühlen des Reaktionsgemisches auf -30°C gestoppt und 5 l einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung werden langsam zugegeben. Die organische Phase wird dann zweimal mit 1 l einer 10 % G/V Lösung aus Ethyldiamintetraessigsäure als Dinatriumsalzdihydrat (EDTA) zur Entfernung aller Metalle extrahiert. Die organische Phase wird mit 2 l Kochsalzlösung gewaschen,

06.11.98
9

0 776 895

getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum unter Bildung von 1061 g (96 %) an (S)-1-O-(Triphenylmethyl)-4-hydroxypentanol als Öl eingedampft.

Eine 60 % Suspension Natriumhydrid in Mineralöl (268,9 g, 6,72 mol, 1,5 Äqu.) wird unter N_2 in 2,8 l trockenem THF suspendiert und eine Lösung aus (S)-1-O-Triphenylmethyl-4-hydroxypentanol (1543 g, 4,48 mol) in 5,6 l trockenem THF wird bei Raumtemperatur zugegeben. Das entstehende Gemisch wird bei Raumtemperatur für 1,5 Stunden gerührt und dann werden 770 ml (8,89 mol, 2,0 Äqu.) frisch destilliertes Allylbromid über 20 Minuten zugegeben. Die Reaktion wird für 1-2 h auf 45°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf 15-20°C abgekühlt und 2 l einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung werden langsam zugegeben, um den Basenüberschuss abzufangen. Das entstehende Gemisch wird mit 1 l Ethylacetat und 1 l Wasser verdünnt und die organische Phase wird isoliert. Die wäßrige Phase wird mit 500 ml Ethylacetat rückextrahiert und die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum unter Bildung von 1867 g (98 %) (S)-1,1',1"-[[[2-(2-Propenyloxy)-4-pentenyl]oxy]methylidin]tris[benzol] als gelbes Öl eingedampft.

(S)-1,1',1"-[[[2-(2-Propenyloxy)-4-pentenyl]oxy]methylidin]tris[benzol] (1281 g, 3,33 mol) wird in einer Lösung aus 4 l wasserfreiem Methylalkohol und 3,6 l CH_2Cl_2 gelöst und unter Durchblasen von N_2 durch die viskose Lösung auf -50° bis -40°C gekühlt. Sudan III Indikator wird zur Reaktion gegeben und Ozon wird durch das Reaktionsgemisch bei -50°C bis -35°C für 13 Stunden geblasen bis die Reaktion von einer Pfirsichfarbe zu einer hellgrün / gelben Farbe wechselt. Das entstehende Reaktionsgemisch kann sich unter N_2 auf 0°C erwärmen und dann wird über 40 Minuten eine Lösung aus Natriumborhydrid (754 g, 19,9 mol, 6 Äqu.) in 2,5 l Ethanol / 2,5 l Wasser zugegeben, wobei die Reaktionstemperatur unter 30°C gehalten wird. Die Reaktion kann dann über Nacht röhren. Die Reaktion kann durch HPLC verfolgt werden. Das Reaktionsgemisch wird auf 10-15°C gekühlt und man gibt 4 l einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung bei < 20°C langsam zu. Das abgestoppte Reaktionsgemisch wird dann filtriert und die Feststoffe werden mit 3 l CH_2Cl_2 gewaschen. Die organische Phase wird isoliert und mit 3 l einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchloridlösung gewaschen und die wäßrigen Phasen werden mit 1 l CH_2Cl_2 rückextrahiert. Die vereinigte organische Phase wird getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum unter Bildung von 1361 g (>100 %) (S)-3-(2-Hydroxyethoxy)-4-(triphenylmethoxy)-1-butanol als Öl eingedampft.

(S)-3-(2-Hydroxyethoxy)-4-(triphenylmethoxy)-1-butanol (500 g, 1,27 mol) wird in 4,3 l CH_2Cl_2 gelöst, unter N_2 auf 0°C gekühlt und Triethylamin (386,4 g, 532 ml, 3,81 mol, 3,0 Äqu.) wird zugegeben. Dann wird Methansulfonylchlorid (396,3 g, 268 ml, 3,46 mol, 2,7 Äqu.) tropfenweise bei < 5°C über 30 Minuten zugegeben. Das entstehende Reaktionsgemisch wird dann bei 0°C bis 5°C für 1-2 Stunden gerührt und mit HPLC verfolgt. Das Reaktionsgemisch wird mit zusätzlichem CH_2Cl_2 verdünnt und zweimal mit 2 l Wasser und 2 l einer wäßrigen gesättigten Ammoniumchlorid gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden mit 1 l CH_2Cl_2 rückextrahiert und die vereinigte organische Phase wird getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum unter Bildung eines Feststoffs eingedampft, der aus 1/1 Heptan / Ethylacetat unter Bildung von 615 g (88 %) (S)-3-(2-[Methylsulfonyl]oxy)ethoxy]-4-triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat in drei Kristallisaten als Feststoff umkristallisiert wird. NMR. MS.

06.11.98
10

0 776 895

Präparation 4

3-[2-Iodethoxy]-4-(triphenylmethoxy)-1-iodbutan

Eine Lösung aus 3-(2-[(Methylsulfonyl)oxy]ethoxy)-4-triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat (5,0 g, 9,10 mmol) in 500 ml analysenreinem Aceton wird mit Natriumbicarbonat (0,0770 g, 0,910 mmol, 0,1 Äqu.) und Natriumiodid (34,2 g, 0,228 mol, 25 Äqu.) behandelt. Das entstehende Gemisch wird bei 50°C unter N₂ für etwa 16 Stunden gerührt. Diese Reaktion kann durch HPLC verfolgt werden. Das Aceton wird im Vakuum aus dem Reaktionsgemisch entfernt und der entstehende Feststoff wird in 300 ml Ethylacetat / 200 ml Wassergemisch extrahiert. Die organische Phase wird mit weiteren 200 ml Wasser gewaschen und die vereinigte wäßrige Phase wird mit 100 ml zusätzlichem Ethylacetat rückextrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit 200 ml einer wäßrigen 10 % Natriumsulfatlösung (dieser Waschschritt entfernt die gelbe Farbe) und 100 ml Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und im Vakuum unter Bildung von 5,45 g (98 %) 3-[2-Iodethoxy]-4-(triphenylmethoxyiodbutan) als klares Öl eingedampft. MS. NMR.

Präparation 5

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[methansulfonyloxy(methyl)]-4,9;16,21-dimethylen-1H-13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H],[3,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-dion

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[methansulfonyloxy(methyl)]-4,9;16,21-dimethylen-1H-13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H],[3,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-dion (10,04 g, 29,4 mmol) und (S)-3-(2-Iodethoxy)-4-(tert-butylidiphenylsilyloxy)-1-iodbutan (17,9 g, 29,4 mmol) werden vereinigt und in wasserfreiem DMF (80 ml) gelöst. Die Lösung wird über eine Spritzenpumpenzugabe über 72 Stunden zu einer Suspension aus Cäsiumcarbonat (38,3 g, 118 mmol) in wasserfreiem DMF (1,7 l) bei 50°C unter N₂ gegeben. Das DMF wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird zwischen CHCl₃ / 1 N HCl aufgeteilt. Die saure Phase wird mit Chloroform und Ethylacetat rückextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 1 N HCl (1x), Wasser (2x), Kochsalzlösung (2x) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und unter Bildung eines magentafarbenen Feststoffs eingedampft. Das rohe Reaktionsgemisch wird ohne weitere Reinigung verwendet.

Das rohe Reaktionsgemisch wird in Ethanol (700 ml) suspendiert und mit 5 N KOH (800 ml) behandelt. Die Reaktionstemperatur wird auf 80°C erhöht. Nach 72 Stunden wird das Ethanol im Vakuum entfernt, die wäßrige Suspension wird auf 0°C abgekühlt und mit 5 N HCl angesäuert. Der violette Niederschlag wird gewonnen und durch ein Silicabett gegeben, wobei mit Ethylacetat eluiert wird. Der Eluent wird unter Bildung von 8,7 g des partiell silylierten Maleimids als magentafarbener Feststoff konzentriert, der ohne weitere Reinigung bei der nächsten Reaktion verwendet wird.

Zu einer DMF Lösung (1 l) des obigen Anhydrids (8,7 g, 19,7 mmol) wird 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan (41,6 ml, 197 mmol) und Methanol (4 ml, 98,5 mmol) unter Stickstoff bei Umgebungstemperatur gegeben. Nach 40 Stunden wird die Reaktion im Vakuum konzentriert und eine 2:1 (V/V) MeCN / 1 N HCl Lösung (100 ml) wird zugegeben. Der Rückstand wird für eine Stunde gerührt. Das organische Lösemittel wird entfernt und die wäßrige Suspension wird mit Ethylacetat extrahiert. Die Lösemittel werden unter Bildung von 8,9 g Maleimid entfernt, das ohne weitere Reinigung verwendet wird.

Zu einer CH₂Cl₂ Suspension (800 ml) des obigen Maleimids (8,9 g, 20 mmol) wird unter Stickstoff bei Umgebungstemperatur Pyridin (4,85 ml, 60 mmol) und ein leichter Überschuß Methansulfonsäureanhydrid (4,21 g, 24 mmol) gegeben. Nach 16 Stunden wird das Reaktionsgemisch mit 0,1 N HCl und Kochsalzlösung gewaschen und die organische Phase wird konzentriert. Der Rückstand wird durch ein Silicabett gegeben, wobei mit einem

06.11.98

11

0 776 895

langsamem Gradienten von 0-10 % MeCN in CH_2Cl_2 eluiert wird. Die Eluentenfraktion, die das gewünschte Mesylat enthält, wird unter Bildung von 2,8 g der Titelverbindung als magentafarbener Feststoff konzentriert. Die Gesamtausbeute aus dem Diiodid beträgt 18 %. MS.

Präparation 6

(S)-13[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H-13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion

2,3-Bis-(1H-indol-3-yl)-N-methylmaleimid (114,7 g, 0,336 mol) und (S)-3-[2-[(Methylsulfonyl)oxy]ethoxy]-4-(triphenylmethoxy)-1-butanolmethansulfonat (220,0 g, 0,401 mol, 1,2 Äqu.) werden in 4,3 l DMF gelöst. Die Lösung der Reagenzien wird dann langsam über 70 Stunden (mit etwa 1 ml/min) zu einer 50°C Aufschämmung Cäsiumcarbonat (437,8 g, 1,34 mol, 4,0 Äqu.) in 7 l DMF gegeben. Nach 70-72 Stunden wird die Reaktion abgekühlt und filtriert und das DMF wird im Vakuum unter Bildung eines Rückstands entfernt, der in 4,6 l CH_2Cl_2 gelöst wird. Die organische Phase wird mit 1,15 l wäßriger 1 N HCl und dann mit 4,6 l Kochsalzlösung extrahiert. Die vereinigten wäßrigen Phasen werden mit 1,1 l CH_2Cl_2 rückextrahiert. Die vereinigte organische Phase wird getrocknet (Na_2SO_4) und filtriert. Das meiste Lösemittel wird im Vakuum entfernt und die entstehende Lösung wird durch 2 kg Silicagel mittels 4-5 Gallonen zusätzlichem CH_2Cl_2 unter Entfernung der Hintergrundverunreinigung filtriert. Das Lösemittel wird im Vakuum entfernt und der entstehende purpur gefärbte Feststoff wird in 7 Volumina Acetonitril (basiert auf dem Gewicht des rohen (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-2-methyl-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-(2H)-dion) behandelt, um 150,2 g (57 %) an (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-2-methyl-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-(2H)-dion nach dem Trocknen (89 % rein gemäß HPLC gegen Standard) zu erhalten.

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-2-methyl-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-(2H)-dion (32,7 g, 46,9 mmol) wird in 1,6 l Ethanol und 1,6 l wäßriger 10 N KOH suspendiert. Das entstehende Gemisch wird für 19 Stunden bis zu einem sanften Rückfluß (78°C) erhitzt. Die meisten Feststoffe lösen sich bei Erreichen des Rückflusses auf. Die Reaktionslösung wird auf 10°C bis 15°C abgekühlt und wäßrige 10 N HCl (1,2 l) wird langsam bei < 15°C zugegeben, um die Acidität auf pH = 1 einzustellen. Bei der Ansäuerung bildet sich ein roter Niederschlag. Das Reaktionsgemisch wird mit 500 ml CH_2Cl_2 verdünnt und für 20 Minuten gerührt und unter Entfernung der meisten Salze filtriert. Die Salze werden mit zusätzlichem CH_2Cl_2 (1,5 l) gewaschen und das Filtrat wird zweimal mit 1 l Wasser extrahiert. Die vereinigten wäßrigen Phasen werden mit 1 l CH_2Cl_2 rückextrahiert und die organische Phase wird getrocknet (MgSO_4). Das Lösemittel wird im Vakuum unter Bildung von 36,0 g (>100 %) (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-13H-dibenzo[E,K]furo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-dion als purpurfarbener Feststoff entfernt (80 % rein gemäß HPLC Fläche).

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-13H-dibenzo[E,K]furo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3-dion (36,0 g, etwa 46,9 mmol) wird in 320 ml trockenem DMF unter N_2 gelöst und wird mit einer vorgemischten Lösung aus 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan (99 ml, 75,7 g, 0,469 mol, 10 Äqu.) und Methanol (9,5 ml, 7,51 g, 0,235 mol, 5 Äqu.) behandelt. Die entstehende Lösung wird für 7 Stunden auf 45°C erhitzt. Die Reaktion kann über HPLC verfolgt werden. Das meiste DMF wird im Vakuum entfernt und der entstehende Rückstand wird in 200 ml Ethylacetat extrahiert und mit 200 ml Wasser und zweimal

06.11.98
12

0 776 895

mit 100 ml einer wäßrigen 5 % LiCl Lösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden mit 100 ml Ethylacetat rückextrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit 200 ml einer gesättigten wäßrigen Ammoniumchloridlösung gewaschen. Die vereinigte organische Phase wird getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum unter Bildung von 35,9 g (>100 %) des rohen (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion als purpurfarbener Feststoff eingedampft.

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[(triphenylmethoxy)methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion (34,0 g, etwa 46,8 mmol) wird in 350 ml CH_2Cl_2 gelöst und unter N_2 auf -25°C gekühlt. Wasserfreies HCl Gas wird für etwa 1-2 Minuten bei < 0°C in die Reaktionslösung geblasen. Die entstehende Aufschlammung kann sich auf Raumtemperatur erwärmen und für 1 Stunde röhren. Die Reaktion kann durch HPLC verfolgt werden. Die Aufschlammung wird filtriert und die Feststoffe werden mit 200 ml CH_2Cl_2 gewaschen. Der Feststoff wird in einem Vakuumofen bei 50°C unter Bildung von 18,6 g (90 %) (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-(hydroxymethyl)-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion als purpurfarbener Feststoff getrocknet (93 % rein gemäß HPLC Fläche).

Eine Suspension aus (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-(hydroxymethyl)-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion (18,2 g, 41,2 mmol) in 900 ml THF wird mit Pyridin (9,78 g, 10,0 ml, 0,124 mmol, 3 Äqu.) und Methansulfonsäureanhydrid (14,3 g, 80,4 mmol, 2 Äqu.) behandelt und für 16 Stunden unter N_2 auf Rückfluß (67°C) erhitzt. Diese Reaktion kann durch HPLC verfolgt werden. Die Reaktion wird dann gekühlt und mit 600 ml Ethylacetat verdünnt und zweimal mit 300 ml 1 N HCl und einmal mit 600 ml Wasser verdünnt. Die wäßrigen Phasen werden mit 300 ml Ethylacetat rückextrahiert und die organische Phase wird getrocknet ($MgSO_4$). Das Lösemittel wird im Vakuum unter Bildung von 19,0 g (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[[[(methylsulfonyl)oxy]methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion entfernt, das in 190 ml heißem (40°C) CH_2Cl_2 behandelt, heiß filtriert und mit 100 ml zusätzlichem CH_2Cl_2 bei Raumtemperatur unter Bildung von 17,3 g (81 %) (S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[[[(methylsulfonyl)oxy]methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion als purpurfarbener Feststoff (96 % rein gemäß HPLC Fläche) gewaschen wird.

(S)-10,11,14,15-Tetrahydro-13-[[[(methylsulfonyl)oxy]methyl]-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion (9,50 g, 18,3 mmol) wird in 475 ml THF gelöst und 172 ml einer wäßrigen 40 % Dimethylaminolösung (0,173 mol, 75 Äqu.) werden zugegeben und die entstehende Lösung wird in einem verschlossenen Reaktor (8-10 psi) für 19 Stunden auf 65°C erhitzt. Die Reaktion wird abgekühlt und mit 900 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase wird zweimal mit 450 ml Wasser und einmal mit 200 ml Kochsalzlösung extrahiert. Die wäßrigen Phasen werden mit 250 ml zusätzlichem Ethylacetat rückextrahiert und die organische Phase wird getrocknet ($MgSO_4$) und das Lösemittel wird im Vakuum unter Bildung von 7,82 g (S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion (91 %) entfernt.

06.11.98
13

0 776 895

Beispiel 1

Mesylatsalz

(S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-Tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]-pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion (3,0 g, 6,4 mmol) wird in 90 ml analysenreinem Aceton suspendiert. Methansulfonsäure (0,62 g, 1 Äqu.) wird in 10 ml entionisiertem Wasser gelöst und zur Aufschlammung aus Base und Aceton gegeben. Die entstehende rötlich-orange Aufschlammung wird gerührt und mittels 25 ml Aceton als Nachwaschlösung filtriert, um nach dem Trocknen 2,92 g (81 %) des Mesylatsalzes zu erhalten. Alle Verfahren, einschließlich der Waschschrifte, werden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Beispiel 2

Monohydrochloridsalz

Das Monohydrochloridsalz von (S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-Tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion wird durch Suspension der Base (3,0 g, 6,4 mmol) in 120 ml (1 Äqu.) Methanol hergestellt. Es wird wäßrige 1 N HCl zugegeben. Das entstehende Gemisch wird für etwa 16 Stunden gerührt und mittels 25 ml Methanol als Nachwaschlösung filtriert. Das entstehende Salz wird in einem Vakuumofen über Nacht bei 50°C unter Bildung von 2,65 g (82 %) des HCl Salzes getrocknet. Alle Verfahren, einschließlich der Waschschrifte, werden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Beispiele 3-8

Hydrochlorid-, Sulfat-, Tartrat-, Succinat-, Acetat- und Phosphatsalze

Die Hydrochlorid-, Sulfat-, Tartrat-, Succinat-, Acetat- und Phosphatsalze werden mittels eines Methanol / Wasserlöslemittelgemisches durch Verfahren hergestellt, die in Technik bekannt sind. Jedes der Salze wird durch die Zugabe einer wäßrigen Lösung der Säure zu einer Methanolsuspension von (S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion hergestellt.

Am unerwartetsten ist, daß die beanspruchte Salzform eine verbesserte Löslichkeit und, am signifikantesten, eine dramatisch verbesserte Bioverfügbarkeit für den Patienten aufweist. Das Salz wird leicht in einer einzelnen kristallinen Form hergestellt und führt zu einer verstärkten Verringerung der Verunreinigungen. Die folgenden Beispiele liefern eine vergleichende Analyse, die die unerwarteten und besseren Eigenschaften des beanspruchten Salzes zeigt.

Beispiel 9

Vergleich der Ausbeute, der gesamten verwandten Substanzen und der restlichen Lösemittel

Die gesamten verwandten Substanzen beziehen sich auf die relativen Mengen an Verunreinigungen im Endprodukt und dies ist daher ein Maß für die Reinheit. Für die hergestellten Salze beobachtet man die höchste Ausbeute, nämlich 82 %, während der Herstellung des Sulfats (Tabelle I), wobei die niedrigste Ausbeute, nämlich 52 %, für das Succinatsalz erhalten wird. Obwohl die gesamten verwandten Substanzen (TRS) bei der Herstellung jedes der Salze verringert werden, beobachtet man die stärkste Verringerung von 5,26 % während der Herstellung des Mesylatsalzes. Das Hydrochloridsalz ist das einzige Salz, das nach einem Trocknen bei 50°C in einem Vakuumofen für etwa 16 Stunden restliches Methanol enthält (0,62 Gewichtsprozent). Das Succinat, Acetat und Phos-

08.11.98
14

0 776 895

phat enthalten 0,18 bis 1,32 % THF bestimmt durch einen GC Test, das vermutlich aus dem vorletzen Schritt der Synthese verbleibt, der in wasserfreiem THF ausgeführt wird.

Tabelle I

Ergebnisse für Ausbeute, % TRS und % restliches Lösemittel für unterschiedliche Salzformen

Salz	Ausbeute (%)	TRS (% HPLC) ^a	restliche Lösemittel, (%) ^b
HCl	69	9,12	0,62 MeOH
Sulfat	82	7,28	keines
Tartrat	77	8,95	keines
Mesylat	63	4,72	keines
Succinat ^c	52	7,86	1,32 THF
Acetat ^c	68	8,05	1,12 THF
Phosphat ^d	79	6,28	0,18 THF

^aDie freie Base, die zur Herstellung dieser Salze verwendet wird, weist 9,98 % gesamte verwandte Substanzen auf.

^bDie Detektionsgrenze des Tests beträgt 0,1 % (1000 ppm). Alle Salze werden in Methanol / Wasser hergestellt und für etwa 16 Stunden in einem Vakuumofen bei 50°C vor dem Test getrocknet. ^cSuccinat und Acetat werden unter den Herstellungsbedingungen nicht vollständig titriert, wie dies durch Röntgenbeugung am Pulver bestimmt wird. ^d Phosphat wird partiell titriert, wie dies durch Röntgenbeugung am Pulver gezeigt wird.

Beispiel 10

Vergleich durch Röntgenbeugung

Die Salze werden auch durch Polarisationsmikroskopie verglichen, um die Kristallinität (Doppelbrechung) zu bestimmen. Die Röntgenbeugung am Pulver zeigt, daß nur die Hydrochlorid-, Mesylat-, Succinat- und Acetatsalze kristallin sind und zu einzigartigen Röntgenmustern führen. Die Röntgenmuster des Succinats und des Acetats sind einander sehr ähnlich und korrelieren mit dem Muster der freien Base. Die Sulfat-, Tartrat- und Phosphatsalze sind schwach kristallin mit signifikanten amorphen Eigenschaften. Kristalline Salze werden aufgrund der leichteren Reinigung und der anschließenden Handhabung bevorzugt.

Beispiel 11

Vergleich der Löslichkeit

Die Löslichkeit in Wasser für jedes Salz wird durch UV Analyse (Tabelle II) bestimmt und verglichen. Am unerwartetsten ist, daß das Mesylatsalz die größte Löslichkeit in Wasser mit 1,76 mg/ml aufweist. Die Löslichkeit des Mesylats ist signifikant höher als die der anderen Salze. Die Daten in der Tabelle II zeigen, daß das beanspruchte Salz in Wasser sechs mal löslicher ist, als das gebräuchlichste pharmazeutisch annehmbare Salz, nämlich das Hydrochloridsalz (0,268 mg/ml). Anschließende Untersuchungen zeigen übereinstimmend eine zwei- bis sechsfache Erhöhung der Löslichkeit. Der hohe pH, der mit dem Succinat- und Acetatsalz beobachtet wird, zeigt das Vorkommen von nicht titrierter freier Base an.

06.11.96
15

0 776 895

Tabelle II
Wasserlöslichkeit

Salz	Löslichkeit (μg Salz / ml H_2O)	Löslichkeit (μg Base / ml H_2O)	pH (gesättigte wäßrige Lösung)
HCl	268	249	4,98
Sulfat	14	12	2,57
Mesylat	1760	1460	4,69
Succinat	0,5	0,4	7,72
Tartrat	71	54	3,77
Acetat	1	0,9	7,80
Phosphat	736	609	3,78

Die Wasserlöslichkeit des Mesylatsalzes ist sehr pH abhängig, und so wird die optimale Löslichkeit bei pH 4,0 bis 5,0, vorzugsweise pH 4,5 beobachtet (2,25 mg/ml). Die Löslichkeit fällt beträchtlich sowohl bei einem höheren als auch tieferen pH. Zusätzlich zur pH Abhängigkeit der Löslichkeit fällt die Wasserlöslichkeit des Mesylatsalzes beträchtlich durch die Zugabe von Chlorid in Form von Natriumchlorid aufgrund der Bildung des HCl Salzes.

Beispiel 12

Vergleich der thermogravimetrischen Analyse (TGA), Differentialscanningcalorimetrie (DSC) und Mettler Heiztischmikroskopie

Jedes Salz wird durch TGA, DSC und Mettler Heiztischmikroskopie analysiert und verglichen (Tabelle III). Die Salze zeigen einen Gewichtsverlust von 0,73 bis 5,50 %, wenn sie von 20°C auf 100°C erhitzt werden. Die Sulfat-, Tartrat- und Phosphatsalze zeigen den größten Gewichtsverlust mit jeweils 5,50 %. Wenn die Salze von 100°C auf 200°C erhitzt werden, sind die Hydrochlorid-, Succinat- und Acetatsalze die einzigen Salze, die einen weiteren Gewichtsverlust zeigen. Die DSC Analyse zeigt, daß das Mesylatsalz einen scharfen endothermen Schmelzpeak bei 261,6°C zeigt. Das Sulfatsalz zeigt eine etwas breite Endotherme bei 267,4°C. Die Hydrochlorid-, Succinat-, Tartrat-, Acetat- und Phosphatsalze zeigen keine Schmelzendotherme mittels DSC. Das Succinat, Acetat und Phosphat zeigen DSC Exothermen bei etwa 245°C. Die Proben werden auch durch Heiztischmikroskopie mittels eines Mettler Heiztisches untersucht. Das Hydrochloridsalz zeigt kein wirkliches Schmelzen bis zu einer Temperatur von 300°C. Der Rest der untersuchten Salze zeigt Anzeichen von Verflüssigung bei Temperaturen von 215°C bis 270°C.

06.11.98
16

0 776 895

Tabelle III

Ergebnisse von TGA, DSC und Heiztischmikroskopie

Salz	TGA (% Gewichtsverlust) 20-100°C	TGA (% Gewichtsverlust) 100-200°C	DSC max. Endotherme (°C)	Heiztischmikroskopie (°C)
HCl	1,42	0,9	kein Smp	kein Smp
Sulfat	5,50	-	267,4	260-270
Mesylat	3,97	-	261,6	230-264
Succinat	0,73	1,90	kein Smp	230-270
Tartrat	5,50	-	kein Smp	215-255
Acetat	0,77	1,44	kein Smp	245-265
Phosphat	5,50	-	kein Smp	230-250

Beispiel 13Vergleich der Hygroskopizität

Die Salze werden bei relativen Luffeuchtigkeiten (RH) von 27 %, 35 %, 65 % und 80 % auf die Hygroskopizität untersucht und sind in Tabelle IV gezeigt. Die Proben werden am Anfang einem Vakuum unterzogen, um einen Referenzpunkt für die RH Daten zu etablieren. Die Menge an Wasser, die in jedem Salz enthalten ist, wird ebenfalls durch Karl-Fischer bestimmt (coulometrisch).

Tabelle IV

Ergebnisse von Hygroskopizität und Karl-Fischer (K.F.)

Salz	Hygroskopizität (Gewichtsprozent zu Beginn)	Vakuum	RH 27 %	RH 35 %	RH 65 %	RH 80 %	K.F. (%)
HCl	100	98,7	98,2	99,3	100,4	100,6	1,3
Sulfat	100	98,9	98,4	99,8	100,9	101,9	4,9
Mesylat	100	99,0	98,5	99,4	100,7	104,4	3,6
Succinat	100	99,3	98,5	99,1	100,0	100,5	0,2
Tartrat	100	97,9	98,2	101,3	103,8	105,4	5,1
Acetat	100	99,4	98,6	99,2	100,2	100,6	0,3
Phosphat	100	98,2	98,6	102,6	105,5	106,6	4,6

Die Salze nehmen von 1,2 bis 8,4 Gewichtsprozent zu, wenn man die Gewichte vom Aussetzen gegenüber dem Vakuum mit dem Aussetzen gegenüber 80 % RH vergleicht. Das Phosphatsalz ist am stärksten hygroskopisch, gefolgt vom Tartratsalz, Mesylat, Sulfat, Acetat, Hydrochlorid und Succinat. Die Karl-Fischer Daten passen ganz gut zu den Hygroskopizitätsdaten, da die Tartrat-, Sulfat-, Phosphat- und Mesylatsalze das meiste Wasser enthalten.

06.11.98
17

0 776 895

Beispiel 14Lösemittel für die Salzherstellung

Das Mesylatsalz wird in Methanol / Wasser, 100 % Aceton, 9:1 Aceton / Wasser, 3:1 Aceton / Wasser und 1:1 Aceton / Wasser hergestellt. Die Base, die zur Herstellung dieser Salze verwendet wird, enthält 9,98 % an gesamten verwandten Substanzen. Die Ausbeuten und die gesamten verwandten Substanzen, die für jedes dieser Salze erhalten werden, sind in Tabelle V angegeben. Zum Vergleich sind die Daten für das HCl Salz miteinbezogen. Die Angabe N.A. in Tabelle V zeigt an, daß die Daten nicht verfügbar sind.

Tabelle V
Ausbeute und % TRS für HCl und Mesylatsalze

Salz	Lösemittel	Ausbeute %	TRS (%), HPLC ^a	Restliches Lösemittel (%) ^c
HCl	30:1 MeOH / H ₂ O	69	9,12 ^a	0,62 MeOH
HCl	9:1 Aceton / H ₂ O	83	4,73 ^a	N.A.
HCl	20:1 MeOH / H ₂ O	82	2,23 ^b	0,05 MeOH
Mesylat	7:1 MeOH / H ₂ O	63	4,72 ^a	Keines
Mesylat	Aceton	85	9,80 ^a	N.A.
Mesylat	9:1 Aceton / H ₂ O	73	2,00 ^a	N.A.
Mesylat	5:1 Aceton / H ₂ O	39	0,69 ^a	N.A.
Mesylat	1:1 Aceton / H ₂ O	29	4,12 ^a	N.A.
Mesylat	9:1 Aceton / H ₂ O	81	0,91 ^b	0,69 Aceton

^aDie zur Herstellung dieser Salze verwendete Base weist 9,98 % gesamte verwandte Substanzen auf. ^bDie zur Verwendung dieser Salze verwendete Base weist 7,03 % gesamte verwandte Substanzen auf. ^cDie Detektionsgrenze des Tests beträgt 0,1 % (1000 ppm).

Das aus 5:1 Aceton / Wasser hergestellte Mesylatsalz enthält 0,7 % gesamte verwandte Substanzen, einer Verringerung von 9,3 % der TRS der freien Base, wobei jedoch die Ausbeute mit 39 % niedrig ist. Die Ausbeute erhöht sich auf 73 % mit 2,0 % TRS, falls 9:1 Aceton / Wasser verwendet wird. Die TRS des Hydrochloridsalzes werden ebenfalls auf 4,7 % verringert, eine Verringerung um 5,3 %, jedoch sind 2,4 % einer unbekannten verwandten Substanz enthalten. Die Fähigkeit zur Herstellung der beanspruchten Salze mit signifikant verringerten Verunreinigungen (TRS) führt zu einer effizienteren Herstellung und vermeidet eine teure Aufarbeitungsreinigung.

Da das Hydrochloridsalz das gebräuchlichste pharmazeutische Salz ist und speziell von Heath et al: EP-A 0 657 458 (Beispiel 5) beschrieben wurde, wird ein biologischer Vergleich des Mesylat- und HCl-Salzes ausgeführt. Am unerwartetsten ist, daß das beanspruchte Mesylatsalz signifikant bioverfügbarer ist als das HCl Salz. Die Bioverfügbarkeit der Salzformen wird in vier männlichen Beagle Hunden durch die orale Verabreichung einer einzelnen 20 mg/kg Dosis des HCl-Salzes und des beanspruchten Mesylatsalzes in einer 10 % Acaziengummisuspension gemessen. Es wird eine eine Woche lange Auswaschperiode zugelassen. Die Dosen werden durch eine Überkreuzmethode verabreicht (2 Hunde / Salz / untersuchtem Hund). Es wird die Plasmakonzentration des Wirk-

06.11.98
18

0 776 895

stoff wie auch eines aktiven Metaboliten verfolgt. Es werden höhere Plasmakonzentrationen an (S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H]-[1,4,13]-oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dion und des Metaboliten bei jedem Hund nach einer oralen Dosis des beanspruchten Mesylatsalzes im Gegensatz zu einer äquivalenten Dosis des HCl Salzes erreicht. Die mittlere maximale Plasmakonzentration ($c_{max} \pm$ Abweichung) nach der Verabreichung des HCl Salzes beträgt 400 ± 142 ng/ml (Verbindung) und 862 ± 255 ng/ml (Metabolit). Die mittlere maximale Plasmakonzentration ($c_{max} \pm$ Abweichung) nach der Verabreichung des beanspruchten Mesylatsalzes beträgt 896 ± 243 ng/ml (Verbindung) und 2455 ± 930 ng/ml (Metabolit). Dies stellt einen Anstieg der Plasmakonzentration der Verbindung und des Metaboliten um etwa 260 % dar.

Die Plasmakonzentration der Verbindung wie auch des Metaboliten wird auch als Funktion der Zeit während der Untersuchung aufgetragen. Das Verhältnis der Fläche unter der Konzentrationskurve (AUC) stellt ein Maß der Bioverfügbarkeit der Verbindung an den Patienten dar. Das AUC Verhältnis für das HCl Salz und das beanspruchte Mesylat wird berechnet und ist in Tabelle VI gezeigt:

Tabelle VI

AUC Verhältnisse einer einzelnen oralen Dosis mit 20 mg/kg, die als HCl- und Mesylatsalz verabreicht wurde

Hund Nr.	AUC Verhältnisse	
	Metabolit Mesylat : HCl	Verbindung Mesylat : HCl
1	2,77	3,89
2	2,97	1,62
3	2,02	2,14
4	2,74	2,56
Mittel	2,62	2,55
Standardabweichung	0,21	0,49

Am unerwartetsten ist, daß die Daten in Tabelle VI zeigen, daß das Mesylatsalz 2,58 fach bioverfügbarer ist, als das HCl Salz. Dieser signifikante Anstieg in der Bioverfügbarkeit erlaubt es, eine geringere Dosis an den Patienten zu verabreichen, um denselben pharmazeutischen Effekt zu bekommen. Daher wird die Exposition des Patienten minimiert. Zusätzlich verringert die geringere Einheitsdosierungsform die Verbindungskosten und verringert die Menge an herzstellender Verbindung. Daher dürfte die Dosis des erfundungsgemäßen Mesylatsalzes 0,5 mg/kg/Dosis bis 0,25 mg/kg/Dosis, bevorzugter 0,1 bis 0,2 mg/kg/Dosis betragen. Diese Dosis ist wesentlich niedriger als die Dosis des HCl Salzes, die dieselben Blutspiegel ergibt.

Eine Zusammenfassung der physikalischen Daten für die sieben Salze zeigt, daß das Mesylatsalz signifikant verbesserte physikalische Eigenschaften gegenüber den in Heath et al., EP-A 0 657 458 untersuchten und beschriebenen Salzen aufweisen. Am signifikantesten zeigt ein Vergleich der Bioverfügbarkeit des beanspruchten Salzes und des HCl Salzes, daß die beanspruchten Mesylatsalze dramatisch verbesserte therapeutische Mittel sind. Daher sind die Vorteile der beanspruchten Mesylatsalze unter anderem:

06.11.98
19

0 776 895

- (1) hohe Wasserlöslichkeit,
- (2) starke Verringerung der gesamten verwandten Substanzen im HPLC,
- (3) keine restlichen Lösemittel gemäß GC Test,
- (4) kristallin durch Röntgenbeugung am Pulver und Polarisationsmikroskopie,
- (5) ein scharfer Schmelzpunkt durch DSC, und
- (6) mehr als die 2,5 fache Bioverfügbarkeit des HCl Salzes.

Wie vorher erwähnt, sind die erfindungsgemäßen Verbindungen als Proteinkinase C Inhibitoren selektiv. Die Aktivität der Verbindung ist in Heath et al., EP-0 657 458 beschrieben. Die Aktivität wird im Calciumcalmodulin-abhängigen Proteinkinasetest, Caseinproteinkinase II Test, cAMP-abhängigen Proteinkinasetest der katalytischen Untereinheit und im Protein-Tyrosinkinasetest bestimmt. Das Mesylatsalz ist in diesen Tests aktiv und Isoenzym-selektiv mit einem HK_{50} Wert von weniger als 10 μM . Verbindungen mit dieser gezeigten pharmakologischen Aktivität sind bei der Behandlung von Zuständen brauchbar, bei denen sich gezeigt hat, daß die Proteinkinase C eine Rolle bei der Pathologie spielt. In der Technik bekannte Zustände sind unter anderem: Diabetes mellitus und dessen Komplikationen (einschließlich Retinopathie, Neuropathie und Nephropathie), Ischämie, Entzündung, Störungen des zentralen Nervensystems, kardiovaskuläre Erkrankung, Alzheimersche Erkrankung, dermatologische Erkrankung und Krebs.

Die beanspruchten Verbindungen werden vorzugsweise vor der Verabreichung formuliert. Daher ist eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung eine pharmazeutische Formulierung, die eine Verbindung der Formel Ia und einen oder mehrere pharmazeutisch annehmbare Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoffe enthält.

Die vorliegenden pharmazeutischen Formulierungen werden durch gut bekannte Verfahren und mit leicht verfügbaren Inhaltsstoffen hergestellt. Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen wird der Wirkstoff gewöhnlich mit einem Träger gemischt oder mit einem Träger verdünnt oder in einem Träger eingeschlossen, der in Form einer Kapsel, eines Sachets, eines Papiers oder eines anderen Behälters vorliegen kann. Wenn der Träger als Verdünnungsmittel dient, kann dies ein festes, halbfestes oder flüssiges Material sein, das als Vehikel, Hilfsstoff oder Medium für den Wirkstoff dient. Daher können die Zusammensetzungen vorliegen in Form von Tabletten, Pillen, Pulvern, Lonzetten, Sachets, Cachets, Elixieren, Suspensionen, Emulsionen, Lösungen, Sirupen, Aerosolen (als Feststoff oder in einem flüssigen Medium), Weich- und Hartgelatinekapseln, Zäpfchen, sterilen injizierbaren Lösungen und sterilen verpackten Pulvern.

Einige Beispiele für geeignete Träger, Hilfsstoffe und Verdünnungsmittel sind unter anderem Lactose, Glucose, Saccharose, Sorbit, Mannit, Stärkearten, Akaziengummi, Calciumphosphat, Alginate, Tragacanth, Gelatine, Calciumsilicat, mikrokristalline Cellulose, Polyvinylpyrrolidon, Cellulose, Wasser, Sirup, Methylcellulose, Methyl- und Propylhydroxybenzoate, Talkum, Magnesiumstearat und Mineralöl. Die Formulierungen können zusätzlich Gleitmittel, Netzmittel, Emulgier- und Suspendermittel, Konservierungsstoffe, Süßstoffe oder Geschmacksstoffe enthalten. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können so formuliert werden, daß sie eine schnelle, anhaltende oder verzögerte Freisetzung des Wirkstoffs nach der Verabreichung an den Patienten bereitstellen. Die Zusammensetzungen werden vorzugsweise in einer Einheitsdosierungsform formuliert, wobei jede Dosierung etwa 1 bis etwa 20 mg, gewöhnlicher etwa 2 bis etwa 10 mg des Wirkstoffs enthält. Es ist jedoch verständlich, daß die verabreichte therapeutische Dosis von einem Arzt in Abrechnung der relevanten Umstände bestimmt wird, einschließlich des zu behandelnden Zustands, der Wahl der verabreichten Verbindung und des ge-

06.11.98

20

0 776 895

wählten Verabreichungswegs und daher sollen die oben angegebenen Dosierungsbereiche den Schutzmfang der Erfindung in keiner Weise beschränken. Der Ausdruck "Einheitsdosierungsform" bezieht sich auf physikalisch getrennte Einheiten, die als einmalige Dosierungen für den Menschen oder andere Säuger geeignet sind, wobei jede Einheit eine vorbestimmte Menge an Wirkstoff, die zur Bildung des gewünschten therapeutischen Effekts berechnet wurde, zusammen mit einem geeigneten pharmazeutischen Träger enthält.

Die folgenden Formulierungsbeispiele sind nur erläuternd und sollen den Schutzmfang der Erfindung in keiner Weise beschränken.

Formulierung 1

Es werden Hartgelatinekapseln hergestellt, die die folgenden Bestandteile enthalten:

	Menge (mg/Kapsel)
Wirkstoff	5
Stärke, getrocknet	85
Magnesiumstearat	10
Gesamt	100 mg

Die obigen Bestandteile werden gemischt und in Hartgelatinekapseln in 100 mg Portionen gefüllt.

Formulierung 2

Es wird mittels der folgenden Bestandteile eine Tablettenformulierung hergestellt:

	Menge (mg/Tablette)
Wirkstoff	7
Mikrokristalline Cellulose	78
Kolloidales Siliciumdioxid	10
Stearinsäure	5
Gesamt	100 mg

Die Komponenten werden gemischt und unter Bildung von Tabletten gepresst, die jeweils 100 mg wiegen.

Formulierung 3

Tabletten, die jeweils 10 mg Wirkstoff enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

	Menge (mg/Tablette)
Wirkstoff	10 mg
Stärke	45 mg
Mikrokristalline Cellulose	35 mg
Polyvinylpyrrolidon (als 10 % Lösung in Wasser)	4 mg
Natriumcarboxymethylstärke	4,5 mg
Magnesiumstearat	0,5 mg
Talkum	1 mg
Gesamt	100 mg

06.11.98
21.

0 776 895

Der Wirkstoff, die Stärke und die Cellulose werden durch ein Nr. 45 Mesh US Sieb gegeben und gründlich gemischt. Die Polyvinylpyrrolidonlösung wird mit den entstehenden Pulvern gemischt, die dann durch ein Nr. 14 Mesh US Sieb gegeben werden. Die so hergestellten Granula werden bei 50°C getrocknet und durch ein Nr. 18 Mesh US Sieb gegeben. Die Natriumcarboxymethylstärke, das Magnesiumstearat und das Talkum, die vorher durch ein Nr. 60 Mesh US Sieb gegeben wurden, werden dann zu den Granula gegeben, die nach dem Mischen in einer Tablettenmaschine unter Bildung von Tabletten gepreßt werden, die jeweils 100 mg wiegen.

Formulierung 4

Kapseln, die jeweils 8 mg Arzneimittel enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

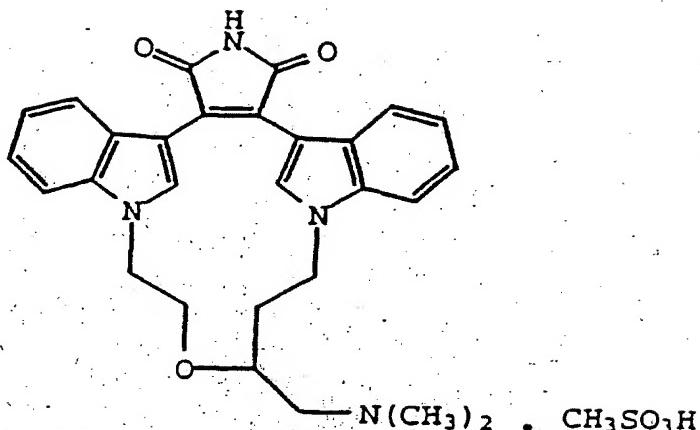
	Menge (mg/Kapsel)
Wirkstoff	8 mg
Stärke	95 mg
Mikrokristalline Cellulose	95 mg
Magnesiumstearat	2 mg
Gesamt	200 mg

Der Wirkstoff, die Cellulose, die Stärke und das Magnesiumstearat werden gemischt, durch ein Nr. 45 Mesh US Sieb gegeben und in Portionen von 200 mg in Hartgelatinekapseln gefüllt.

Die Prinzipien, bevorzugten Ausführungsformen und Durchführungsarten der vorliegenden Erfindung wurden in der vorangehenden Beschreibung beschrieben. Die Erfindung, die hierin geschützt werden soll, soll jedoch nicht durch die im einzelnen beschriebenen Formen beschränkt werden, da sie als erläuternd und nicht als beschränkend gesehen werden sollen. Variationen und Veränderungen können durch den Fachmann vorgenommen werden, ohne sich vom Schutzmfang der Erfindung zu entfernen.

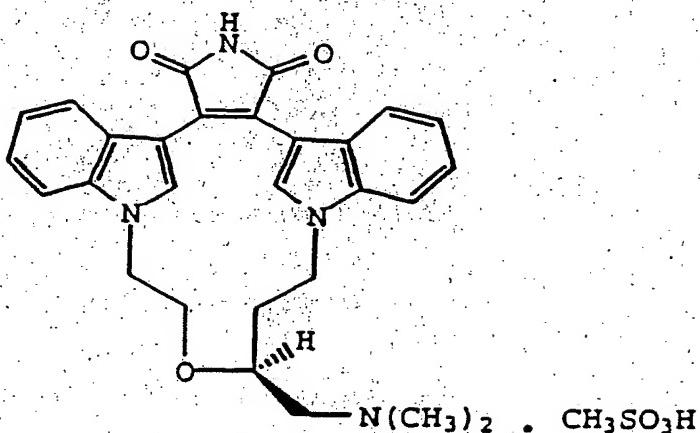
Patentansprüche

1. Salz der Formel



und Solvate hiervon.

2. Salz nach Anspruch 1 der Formel



und Solvate hiervon.

3. Salz nach Anspruch 1 oder 2, das im wesentlichen kristallin ist.

4. Salz nach Anspruch 3, das (S)-13-[(Dimethylamino)methyl]-10,11,14,15-tetrahydro-4,9:16,21-dimethylen-1H,13H-dibenzo[E,K]pyrrolo[3,4-H][1,4,13]-oxadiazacyclohexadecin-1,3(2H)-dionmethansulfonatmonohydrat.

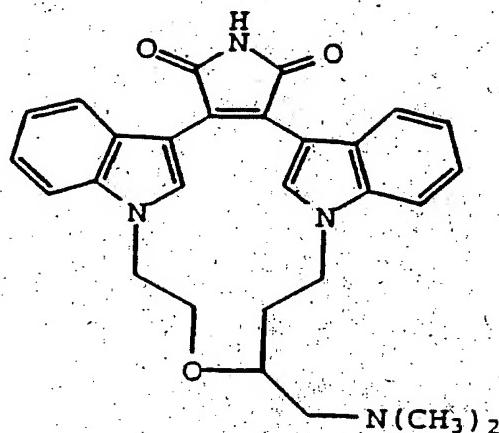
5. Salz nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Salz weniger als etwa 5 % an gesamten verwandten Substanzen aufweist.

6. Pharmazeutische Formulierung, die ein Salz nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmitteln, Hilfsstoffen oder Trägern enthält.

06.11.98
23

0 776 895

7. Pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 6, worin die Formulierung etwa 1 bis etwa 20 mg des Salzes enthält.
8. Salz nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Verwendung als Pharmazeutikum.
9. Salz nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Verwendung bei der Behandlung von mikrovaskulären diabetischen Komplikationen.
10. Verfahren zur Herstellung eines Salzes nach einem der Ansprüche 1 bis 5, gekennzeichnet durch die Umsetzung einer Verbindung der Formel



mit Methansulfonsäure in einem nicht-reaktiven organischen Lösemittel.

11. Verfahren nach Anspruch 10, worin das Lösemittel Aceton / Wasser ist.
12. Verfahren nach Anspruch 11, worin das Lösemittel aus etwa 5:1 bis etwa 10:1 Volumen Aceton zu Wasser besteht.
13. Verfahren nach Anspruch 12, worin das Lösemittel aus 9:1 Volumen Aceton zu Wasser besteht.